

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001 年1 月18 日 (18.01.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/03609 A1

- (51) 国際特許分類<sup>7</sup>: A61F 2/04, A61L 27/00 (71) 出願人 および  
(21) 国際出願番号: PCT/JP00/04380 (72) 発明者: 清水慶彦 (SHIMIZU, Yasuhiko) [JP/JP]; 〒  
611-0002 京都府宇治市木幡御蔵山39-676 Kyoto (JP).  
(22) 国際出願日: 2000 年7 月3 日 (03.07.2000) (74) 代理人: 弁理士 津国 肇 (TSUKUNI, Hajime); 〒  
105-0001 東京都港区虎ノ門1丁目22番12号 SVAX TS  
ビル Tokyo (JP).  
(25) 国際出願の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): CA, CN, JP, KR, US.  
(26) 国際公開の言語: 日本語 (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,  
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  
(30) 優先権データ:  
特願平11/192993 1999 年7 月7 日 (07.07.1999) JP  
添付公開書類:  
— 国際調査報告書  
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式  
会社 タピック (TAPIC INTERNATIONAL CO., LTD.)  
[JP/JP]; 〒105-0001 東京都港区虎ノ門1丁目22番12号  
Tokyo (JP).  
2 文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ARTIFICIAL NEURAL TUBE

(54) 発明の名称: 人工神経管

(57) Abstract: An artificial neural tube which remains in the body until the completion of nerve regeneration but does not remain as a foreign matter thereafter, induces the regeneration of axon from a cut-end of a cut nerve, promotes the invasion of capillary blood vessels *in vivo*, and thus promotes the regeneration of a nerve tissue. Namely, an artificial neural tube composed of a tube made of a biodegradable material, a microfibrinous collagen material inserted into the tube and laminin packed into the voids of the microfibrinous collagen material; and a process for producing the artificial neural tube.

(57) 要約:

本発明は、神経が再生するまでは生体内で残存し、神経の再生後は、異物として生体に残存することがなく、切断された神経断端からの軸索の再生を誘導し、生体からの毛細血管の侵入を促し、神経組織の再生を促す人工神経管を提供することを目的とするものであり、生体内分解吸収性材料からなるチューブの内腔に微細線維化コラーゲン体を有する人工神経管であって、該微細線維化コラーゲン体中の空隙にラミニンが充填されたものである人工神経管、及びその製造方法である。

WO 01/03609 A1

## 明 細 書

## 人工神経管

## 技術分野

- 5 本発明は、人工神経管に関する。

## 背景技術

- 末梢神経が、手術で切断されたり、あるいは外傷により切断された場合、切断された末梢神経の断端の相互を直接吻合する方法がまず試みられる。しかし、多くの場合、切断された神経を正確に直接吻合することは不可能であり、切断されたまま放置されることがある。このため、末梢側に向かって再生しようとする神経が、結合組織などに阻まれ、末梢側神経断端に到達できずに、切断端神経腫となって再生が停止し、その結果、術創や創傷の治癒後、切断された神経の機能が回復せず、後遺症が残ることが多い。直接吻合が不可能である場合、同じ患者から、その機能のあまり重要でない末梢神経を部分的に切除し、これを用いて神経の切断箇所に自家移植を行うこともある。しかし、この方法でも、神経機能が十分に回復されないことが多いばかりでなく、移植神経を採取した部分においても機能の低下が見られることが多い。

- そこで、切断された末梢神経の断端の相互を、チューブ状の医用材料、つまり人工神経管で接続し、神経幹の中樞側断端から末梢側断端に向かって軸索が再生し、正しい方向に伸びるのを誘導して、末梢神経幹から神経筋接合部又は末梢感覚受容器まで到達させ、これにより、機能を回復させようとする試みが多数行われてきた。人工神経管としては、従来、シリコーン、ポリエチレン、ポリ塩化ビニルなどからなる非多孔性チューブ、延伸ポリテトラフルオロエチレン、セルロースなどからなる多孔性チューブ、ポリアクリロニトリルやポリスルホンなどからなる半透膜チューブ、生体内分解性材料であるポリグリコール酸、ポリ乳酸もしくはこれらの共重合体などからなるチューブ、あるいはゼラチンチューブ、あるいは動脈もしくは静脈などの同種由来の生体組織チューブが試みられてきた。しかし、これらの材料による末梢神経の再生実験では、材料により生体の修復が

妨げられるため、これまで再生することのできた神経の長さは、長くても15mm程度のものである。また、再生する神経が細く、神経の形態が正常に回復しないばかりか、再生した神経の機能も回復しないことが多い。また、神経成長因子であるNGFをチューブに充填した例も報告されているが、NGFが早期に流出、  
5 拡散してしまうため、優れた効果は得られていない。

最近では、コラーゲンチューブに、ラミニン及びフィブロネクチンを被覆したコラーゲン線維を充填した人工神経管 (Tong, X., et al. Brain Research 663: 155-162 (1994)) が試みられているが、神経がより長く再生するまでの間、コ  
10 ラーゲンチューブが分解されずに残存することができず、良好な結果は得られていない。

一方、脊髄は、一度損傷を受けると再生しないと考えられてきた。外傷、腫瘍などにより脊髄が損傷を受けた場合、損傷を受けた脊髄は再生することなく、損傷部以下の機能は失われたままであり、対麻痺が後遺症として残ることになる。しかし、最近では、脊髄も再生しうることを証明する動物実験が行われ始め、脊髄  
15 を鋭利に切断し、正確に再縫合した場合は、機能が回復し、脊髄損傷部もかなり修復されること、脊髄の一部を管状に切除し、この箇所にも脊髄神経束を移植すると、脊髄の一部が再生し、機能も部分的ではあるが回復すること、そして脊髄の一部を管状に切除し、この箇所に胎児の脊髄を移植すると、脊髄の機能も形態も回復することなどが、ラットの実験で観察されている。この場合でも、移植する  
20 胎児の脊髄片を、それぞれの神経突起を正しく対応させて移植した場合にのみ再生が起きることが認められている。以上の知見より、脊髄においても、正確に再生組織のコンパートメントを一致させる様に誘導することによって、脊髄の再生が起こり得ることが判明したが、実際に脊髄の再生を可能とする人工脊髄管は全く開発されていない。

25 そこで、神経が再生するまで生体内で残存させることができるよう、生体内分解速度をコントロールでき、神経の再生と共に生体内で分解吸収されるため、神経の再生後、再生した神経を圧迫することがなく、切断された神経断端から再生してくる軸索が正しい方向に伸びるように誘導し、生体からの毛細血管の侵入を促すことによって早期の血流回復をもたらし、神経組織の再生を促すような人工

神経管の開発が望まれてきた。また末梢神経ばかりでなく、脊髄の欠損部分を接続し、脊髄組織を正しく再生し、機能回復を促す人工脊髄管の開発も熱望されている。

## 5 発明の開示

本発明は、生体内分解吸収性材料からなるチューブ（１０，２０）の内腔に、微細線維化コラーゲン体（３０）を有する人工神経管であって、該微細線維化コラーゲン体中の空隙にラミニンが充填されたものであることを特徴とする。

本発明はまた、人工神経管を製造する方法であって、生体内分解吸収性材料からなるチューブ（１０，２０）を準備し；該チューブの内腔にコラーゲンの塩酸溶液を導入し；凍結し；凍結乾燥して微細線維化コラーゲン体（３０）を形成し；該内腔に微細線維化コラーゲン体を有するチューブに熱架橋処理を施し；そして該微細線維化コラーゲン体中にラミニンを導入する；ことを特徴とする。

## 15 図面の簡単な説明

図１は、本発明に係る人工神経管の１実施態様の断面を示す図である（構成を模式的に示したものであり、寸法は実寸ではない。また、符号３０が指し示している部分は実体であるが、説明の都合上斜線を省いている）。

図２は、タイプー１の本発明に係る人工神経管の構造（断面）を示す写真（SEM写真）である。

図３は、タイプー２の本発明に係る人工神経管のチューブ基材の構造（表面）を示す写真（SEM写真）である。

図４は、本発明に係る人工神経管のチューブ内腔に存在せしめられる微細線維化コラーゲン体の構造（断面）を示す写真（SEM写真）である。

25 ここで、各符号は、

１１、２１：（生体内分解吸収性材料からなる）チューブ

１２、１３：（ゼラチン）被覆層

２２、２３：（コラーゲン）被覆層

３０：微細線維化コラーゲン体

を、それぞれ表わす。

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明の人工神経管を構成するチューブ（１０、２０）の長さ及び内径は、  
5 神経の切断部分の長さ及び太さによって異なるが、例えば、座骨神経（ネコで例示）の約２５mm程度の欠損部をカバーするには、長さは、約２８～３５mm、好ましくは約３０mm、内径は、約１～８mm、好ましくは約４mmである。また、本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合  
も、該チューブの長さは切断部分の長さに応じて決定すればよく、またその内径  
10 は、好ましくは約２～１２mm、特に約１０mmである。

本発明の人工神経管を構成する生体内分解吸収性材料からなるチューブ（１０、２０）は、切断された神経が再生して、切断された箇所が再結合するまでの間（約１～３か月間）、チューブ外からの生体細胞の侵入を防ぐためにチューブの形状を保持する必要がある、そのために、生体内分解吸収性でありながらも、ある程度の期間、生体内でその形状を維持することのできる必要がある。このような材料の基材としては、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、グリ  
15 コール酸と乳酸との共重合体、乳酸とε-カプロラクトンとの共重合体、ポリジオキサノン、及びグリコール酸とトリメチレンカーボネートとの共重合体から選択される材料からなるメッシュ状材料が例示されるが、なかでもポリグリコール  
20 酸からなるメッシュ状チューブが好ましい。また、前記のメッシュ状チューブのほか、微細線維化コラーゲンからなるチューブも好適に用いることができる。

まず、生体内分解吸収性材料からなるチューブが、ポリグリコール酸などの材料からなるメッシュ状チューブ（１１）の少なくとも外面に、ゼラチン又はコ  
ラーゲンからなる被覆層（１３、２３）を有するものである、本発明の人工神経  
25 管（以下、「タイプ－１」という）について記載する。ポリグリコール酸などの材料からなるメッシュ状チューブ（１１）は、生体内で約１～３か月間、そのチューブ状の形状を保持させるため、該チューブの厚さ（筒体としてのチューブの壁の厚さ。以下、同様）は、好ましくは約０．１～３mm、特に約０．５～２mmである。厚さが約３mmを超えると、生体組織の再生の障害となり、厚さが約０．１

mm未満であると、チューブの分解吸収が早過ぎて、神経が再生し終わるまでその形状が維持されない。また、本発明の人工神経管を人工育髄管として使用する場合、その厚さは、好ましくは約0.2～5mm、特に、約0.5～3mmである。

前記チューブの基材がポリグリコール酸などの材料である場合、それ自身疎水性である基材に水透過性を付与するため、該基材はメッシュ状のものとする。このメッシュ状チューブ(11)のメッシュ孔径は、好ましくは約5～30 $\mu$ m、特に10～20 $\mu$ mである。メッシュ孔径が、約5 $\mu$ m未満であると細胞や組織が増殖できず、約30 $\mu$ mを越えると組織の進入が過剰となる。

また、該材料自体には組織の再生を促進させる作用はないので、基材としてのチューブ(11)の少なくとも外面に、組織再生促進作用を有する材料からなる被覆層(13、23)を有せしめるが、該基材としてのチューブの内外両面とも及びメッシュ孔内部も該組織再生促進作用を有する材料にて被覆又は充填されているのが好ましい。被覆層(13、23及び/又は12、22)の厚さは、好ましくは約0.2～5mm、特に約0.5～3mmである。このような組織再生促進作用を有する材料としては、水透過性を有し、生体に適用しても異物反応を起こさず、生体親和性及び組織適合性に優れ、組織の再生を促進させる作用を有するコラーゲン又はゼラチンが挙げられる。コラーゲンの原料としては、従来から用いられている各種動物由来のコラーゲンを使用することができ、例えばウシ、ブタ、ウサギ、ヒツジ、カンガルー、鳥などの動物の皮膚、骨、軟骨、腱、臓器などに由来する、酸、アルカリ、酵素などによって可溶化されたI型コラーゲン、又はI型とIII型の混合コラーゲンが好ましい。このコラーゲンからなる被覆層は、コラーゲン分子が分散しているアモルファス構造の層である。ゼラチンからなる被覆層は、日局精製ゼラチンを原料とすることができる。

本発明の人工神経管においては、生体内分解吸収性材料からなるチューブ基材は、上記のポリグリコール酸などの材料からなるメッシュ状チューブ(11)のほか、組織再生促進作用のあるコラーゲンを原料とした、微細線維化コラーゲンからなるチューブ(21)であることもできる。以下に、生体内分解吸収性材料が、微細線維化コラーゲンからなるチューブであり、そして該チューブの少なくとも外面に有する被覆層(23、及び/又は22)がコラーゲンからなるもので

ある、本発明の人工神経管（以下、「タイプー２」という）について記載する。

該チューブ基材の原料として用いるコラーゲンとしては、タイプー１の人工神経管の被覆層の原料と同様、従来から用いられている各種動物由来の、酸、アルカリ、酵素などによって可溶化されたⅠ型コラーゲン、又はⅠ型及びⅢ型の混合コラーゲンが好適である。この微細線維化コラーゲンからなる材料は、コラーゲン分子からなる微細線維が多重に折り重なった不織布状多元構造体（詳しくは、コラーゲン分子数個からなる直径３～７nmの超微細線維をその基本単位とし、該超微細線維がバンドルとなって直径３０～７０nmの微細線維を形成し、該微細線維が更なるバンドルとなって直径１～３μmの細線維を形成し、次いで

10 該細線維のバンドル列が縦横互い違いに積層されて直径５～８μmの線維を形成し、次に該線維が同軸方向に重なり合って直径２０～５０μmの板状線維を形成している。最終的にこの板状線維１１が、ランダムに絡み合って最大単位としての線維性コラーゲンを形成しているものである。図２参照）マトリックス又は糸状物を織ったものもしくは編んだものであり、これを材料とするチューブ

15 （２１）は、タイプー１の人工神経管のチューブ（１１）と同様な内径及び長さを有する。その厚さは、好ましくは約０．５～５mm、特に約１～２mmであり、また本発明の人工神経管を人工脊髄管として用いる場合は、その厚さは、好ましくは約０．５～５mm、特に約１～３mmである。また、このチューブ（２１）の少なくとも外面に形成されるコラーゲンからなる被覆層（２３及び／又は２２）は、

20 チューブ基材としての微細線維化コラーゲンからなる不織布状多元構造体と同様、従来から用いられている各種動物由来の可溶化されたⅠ型コラーゲン又はⅠ型及びⅢ型の混合コラーゲンを原料とするものである。但し、形態としては、コラーゲン分子が分散しているアモルファス構造の層である。尚、その被覆層の厚さは、好ましくは約０．１～２mm、特に約０．５～１mmである。

25 本発明の人工神経管は、先に詳細に記載した、生体内分解吸収性材料からなるチューブ（１０，２０）のの内腔に、微細線維化コラーゲン体（３０）を有するものであって、該微細線維化コラーゲン体中の空隙にラミニンが充填されたものである（ここで、該微細線維化コラーゲン体は、チューブ基材としての微細線維化コラーゲンからなる不織布状多元構造体と実質的には同様の構造のものであ

る。図3参照)。この人工神経管を生体に適用すると、該微細線維化コラーゲン体を神経線維が再生の足場として利用して、再生、伸展していく(尚、神経線維の再生・進展の過程において該微細線維化コラーゲン体は少しずつ消化・消滅して行く)。

- 5 好ましい実施態様としては、生体内分解吸収性材料からなるチューブ基材(11又は21)がポリグリコール酸の筒状メッシュ体からなるチューブ(11)であり、該チューブの被覆層(23及び/又は22)がアモルファスコラーゲンからなるものである。

以下に、本発明の人工神経管の製造方法について記載する。

- 10 先ず、タイプ-1の人工神経管であるが、それを製造するには、まずポリグリコール酸などを材料として、メッシュ状のチューブ(11)を作製する。どのような方法によってもよいが、例えばポリグリコール酸などの線維(例えば、直径0.1mmの線維)を筒状に編んで、上記の厚さを有するメッシュ状のチューブを得る。調製したメッシュ状チューブ(11)を、上記のコラーゲン又はゼラチン溶液を塗付するか又は該溶液中に浸漬し(この塗付又は浸漬を以下、「コーティング」という)、次いで風乾することによって、メッシュ状チューブ(11)の少なくとも外面、及びメッシュ孔内部にもコラーゲン又はゼラチン被覆層(13、23及び/又は12、22)を形成する(該メッシュ状チューブの外面及びメッシュ孔内部のみに該コラーゲン又はゼラチン被覆層を形成する場合
- 15 には、該コラーゲン又はゼラチン溶液のコーティングに先立ち、該メッシュ状チューブの内腔に該メッシュチューブの内面に当接するテフロン製の棒を入れておけばよい)。このコラーゲン又はゼラチン被覆層の形成には、好ましくは約1~3重量%、特に約1~2重量%のコラーゲンを含み、約1Nの塩酸溶液(pH約3)、又は約2~30重量%、好ましくは約10~20重量%のゼラチン水溶液を使用する。尚、このタイプの人工神経管においては、メッシュ状チューブ(11)に親水性を付与するため、その表面にプラズマ放電、オゾン照射などの親水化処理を行ってから、コラーゲン又はゼラチンで被覆するのが好都合である。

一方、タイプ-2の人工神経管を調製するには、チューブ内面に当接する、例



- 例えば、直径が約1～8 mm、好ましくは約4 mmのテフロンなどの棒を芯材として用いる。尚、本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合には、好ましくは直径約2～12 mm、特に約10 mmの棒を芯材として用いる。これを、好ましくは約0.5～3重量%、特に約1～2重量%のコラーゲンを含む約1N塩酸溶液
- 5 に浸漬して、該芯材の表面に、厚さが好ましくは約5～20 mm、特に約10 mmのコラーゲン塩酸溶液層を形成し、これを凍結する（例えば、約0℃で約12時間）。尚、本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合は、厚さが好ましくは約5～30 mm、特に約20 mmのコラーゲン塩酸溶液層を形成し、これを凍結する。凍結することによって、塩酸溶液中に分散しているコラーゲン分子の間
- 10 に微細な氷が形成され、コラーゲン塩酸溶液が層分離を起こし、そしてコラーゲン分子が再配列することによってコラーゲンが微細線維化する。次に、これを更に真空下、凍結乾燥（例えば、約0℃で約24時間）する。凍結乾燥することによって、コラーゲン分子間の微細な氷が気化するとともに、コラーゲンの微細線維が多重に折り重なった不織布状コラーゲン層からなるチューブが得られる。
- 15 次に、この微細線維化コラーゲン層をその上に形成させた芯材を、ポリエチレンなどの袋に入れ、密閉し、脱気して、あるいは、脱気せずに該微細線維化コラーゲン層を機械的に押しつぶしてコラーゲン層を圧縮する。圧縮することによって、密度の高い微細線維化コラーゲン層（21）が得られる。この圧縮操作は、圧縮後の該微細線維化コラーゲン層の厚さが好ましくは約0.5～5 mm、特に
- 20 約1～2 mm、人工脊髄管として用いる場合には、厚さが好ましくは約0.5～5 mm、特に約1～3 mmとなるように行う。尚、微細線維化コラーゲンからなるチューブとして、コラーゲンの糸状物を織ったもの又は編んだものを用いる場合には、前記のコラーゲン塩酸溶液層の形成に代えて、前記のコラーゲン塩酸溶液から湿式紡糸にてコラーゲンの糸状物を先ず作り、それを筒状に織・編成し、そ
- 25 して凍結以降、同様の操作を行えばよい。

このようにして形成した圧縮微細線維化コラーゲン層（21）の少なくとも外面上に更にコラーゲン被覆層（23及び／又は22）を形成する。これらのコラーゲン被覆層（23及び／又は22）を形成することによって、より高い強度を有する生体内分解吸収性材料からなるチューブ（20）が得られる。これらのコ

ラーゲン被覆層（２３及び／又は２２）を形成するには、前記の芯棒から取り外した微細線維化コラーゲン層（２１）からなるチューブを再び好ましくは約０．５～３重量％、特に約１～２重量％のコラーゲンを含む約１Ｎ塩酸溶液を塗付又は該コラーゲン塩酸溶液に浸漬して、微細線維化コラーゲン層（２１）の少なくとも外面上に、コラーゲン塩酸溶液層を形成し、これを風乾する。この浸漬と風乾操作を複数回、好ましくは５～２０回程度繰り返し、コラーゲン分子が分散しているアモルファス構造のコラーゲン被覆層（２３及び／又は２２）とする

（コラーゲン塩酸溶液層の厚さは、それぞれ全体として、好ましくは約０．２～１．０mm、特に約０．５mmである）。本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合も、この厚みは同様である。

このようにして調製したチューブ（２０）は、があるので圧縮微細線維化コラーゲン層（２１）のみからなるチューブと比較して高い引き裂き強度を有する（アモルファスコラーゲンの該圧縮微細線維化コラーゲン層への一部進入及び該圧縮微細線維化コラーゲン層と該コラーゲン被覆層の界面におけるコラーゲンの一部溶解・析出による）ために取扱いやすく、神経との縫合が容易である。

上記の通り調製した、生体内分解吸収性材料からなるチューブ（１０、２０）の内腔に、微細線維化コラーゲン体（３０）を形成する。この微細線維化コラーゲン体（３０）を形成するには、芯材の装填及び圧縮操作を行なわないことを除き、タイプ２のチューブ（２１）の形成と同様にして行なえばよい。要するに、チューブ（１０）又はチューブ（２０）をある種の型として前記のコラーゲン塩酸溶液をこれらのチューブの内腔に流し込み、凍結し、凍結乾燥すればよい。

尚、この微細線維化コラーゲン体（３０）の形成に先立ち、コラーゲン又はゼラチン被覆層（１３、２３及び／又は１２、２２）及び圧縮微細線維化コラーゲンからなるチューブ（２１）に耐水溶性を付与するために架橋処理を行なう（タイプ２の場合には、チューブ（２１）を調製後、被覆層（２３及び／又は２２）の形成前にもこの架橋処理を行なってもよい）。この架橋処理は、本発明の人工神経管に、末梢神経が再生し終わるまでの間、そのチューブ状の形状を保持させて、神経管外からの細胞の侵入を防ぐためにも有利である。

架橋処理は、再生を要する神経切断部の長さによっても異なる（生体内でのチューブの保形機能付与が律速となるため）が、生体への適用後、1～3か月間、チューブ状の形状を保持させる程度に行う。架橋方法としては、γ線架橋、紫外線架橋、電子線架橋、熱脱水架橋、グルタルアルデヒド架橋、エポキシ架橋及び水溶性カルボジイミドが挙げられるが、架橋の程度をコントロールしやすく、架橋処理を行っても、生体に影響を及ぼさない熱脱水架橋が好ましい。架橋処理は、真空下、例えば約105～150℃、好ましくは約120～150℃、特に好ましくは約140℃の温度で、例えば約6～24時間、好ましくは約6～12時間、特に好ましくは約12時間行う。

- 最終的に、前記の微細線維化コラーゲン体（30）中の空隙に神経線維の成長を支援するような成分を充填するのであるが、この成分としては、ラミニン、特にヒトラミニンが好ましい。充填方法としては、ラミニンをPBSに溶解したものにその内腔に微細線維化コラーゲン体（30）を有するチューブ（10、20）を浸漬したり、又はラミニンのPBS溶液を該微細線維化コラーゲン体中に圧入したり、等どのような方法で行ってもよい。但し、微細線維化コラーゲン体（30）の作製ステップにおけると同様の理由により、このラミニン充填ステップに先立ち、作製された該微細線維化コラーゲン体に対して架橋処理、好ましくは熱脱水架橋処理を行なっておくことが好ましい。尚、本発明の人工神経管を人工脊髄管として用いる場合には、このラミニン充填に加え、神経線維の再生・進展を促進するための追加成分、例えばTGF-β等の細胞栄養／成長因子、自己のマクロファージをはじめとする炎症系細胞（外部にて培養したもの）又は自己、同種もしくは異種のオリゴデンドログリアやシュワン細胞等のミエリン（髄鞘）形成細胞、の内のすくなくとも一つを該微細線維化コラーゲン体中に導入することが好ましい。これらの追加成分の導入法については、常法に従って行なえばよい。これらの神経再生・進展支援成分の充填・導入の後、全体を風乾して本発明の人工神経管の製造が終了となる（勿論、市場での流通のために必要な操作、例えば袋詰めとか殺菌等を行なわなくてよいという意味ではない）。

上記のように調製した人工神経管は、外傷又は外科手術などによって切断された神経の両方の断端を本人工神経管に内挿し、その部分を結紮することに

よって、軸索が再生し、正しい方向に伸びるのを誘導して、軸索を、末梢神経幹から神経筋接合部又は末梢感覚受容器まで到達させて、神経機能を回復させるために使用することができる。また、外傷などによって脊髄が損傷された場合においても、損傷箇所の椎骨をはずし、脊髄の損傷箇所を本人工神経管でカバーすることによって、損傷された脊髄を再生させて、その機能を回復させることができると思われる。

以下に本発明を、実施例及び比較例により詳細に説明するが、これらは本発明を限定するものではない。

#### 実施例

10     ポリグリコール酸（PGA）線維（ $\phi$ ：0.1 mm）を筒状に編んで、長さ約100 mm、内径約4～5 mm、厚さ約1 mmのポリグリコール酸のメッシュ状チューブ（メッシュ孔径：約10～20  $\mu$ m）を準備し、その表面をプラズマ放電処理にて親水化し、次いで、ブタ皮膚由来の1.0重量%の酵素可溶化コラーゲンを含む1N塩酸溶液に浸漬、次いで風乾することによって、メッシュ状チューブの内  
15     外面を該コラーゲン塩酸溶液で被覆した（当然にそのメッシュ孔内部にも該コラーゲン塩酸溶液が充填されている。ここで、浸漬・風乾作業は10回繰り返した）。

次いで、前記のコラーゲン被覆層をその内外面に有するチューブに熱脱水架橋処理（140℃×24 hr）を施した後、その内腔に前記のコラーゲン塩酸溶液を  
20     流し込み、それを凍結し（-20℃×24 hr）、凍結乾燥し（真空下、-80℃×48 hr）、そして再度、熱脱水架橋処理（140℃×24 hr）に付した。

このようにして得られた架橋処理後の微細線維化コラーゲン体をその内腔に有する前記のチューブをヒトラミンのPBS溶液（濃度：10  $\mu$ g/ml）に浸漬（10 min）、次いで風乾（この作業の回数：3回）して本発明の人工神経管  
25     （タイプー1）を得た。

イヌ（体重10 kg）の総腓骨神経80 mmを切除し、両側の神経断端を前記の人工神経管に内挿し、該人工神経管と該神経断端との重畳部を10-0ナイロン糸で結紮し、経時的な評価を行なった。

#### 比較例

その内外面にコラーゲン被覆層を有する前記のPGAメッシュチューブの内腔に、予め熱脱水架橋処理（140℃×24hr）に付したブタ皮膚由来酵素可溶化コラーゲンの線維（Φ：約5μm）をヒトラミニンのPBS溶液（濃度：10μg/ml）に浸漬、次いで風乾（この作業の回数：3回）して得たラミニン被覆コラーゲンの線維約80本を、該チューブの軸線に実質的に平行となるように挿入して得た人工神経管を用いて実施例と同様の観察を行った。

### 観察結果

比較例の場合、手術後1ヶ月では静止時の患側後肢の異常姿勢、歩行時の跛行が認められ、術後3ヶ月でも大半の被検体に前記の姿勢及び歩行異常の遅延が認められた。これに対し実施例では、術後1ヶ月での同機能異常の軽症化が認められ、術後3ヶ月では両者ともほぼ消失した。電気生理学的検討では、感覚神経の回復を表わす体性感覚誘発電位（SEP）、運動神経の回復を表わす複合筋活動電位（CMAP）ともに術直後の反応消失から再誘発までの期間が短縮され、術後3ヶ月の回復度（Recovery index）も促進された。

### 産業上の利用可能性

本発明の人工神経管は、神経が再生し終るまでの間、その形状を維持することができ、また神経の再生を誘導、促進するため、従来の人工神経管と比較して、切断された神経は、より速やかに、より長く再生し、再生した神経の状態もより正常に近く、神経機能の回復も良好である。また損傷を受けた脊髄の再生、回復のための人工脊髄管としても使用することができる。

## 請 求 の 範 囲

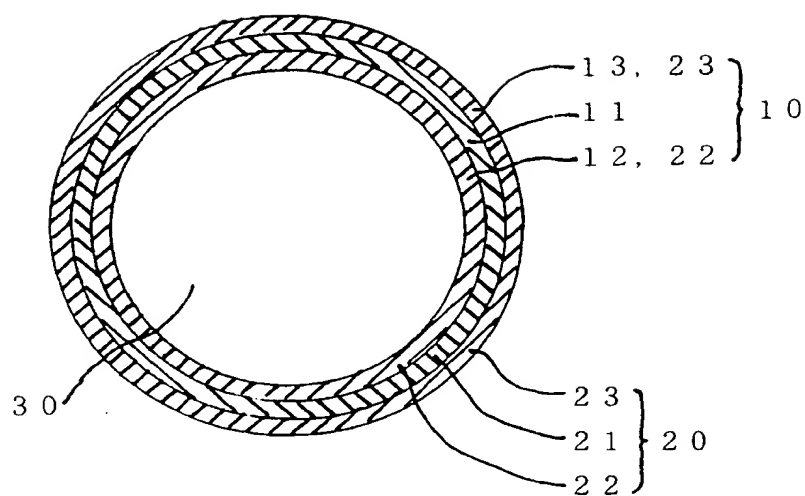
1. 生体内分解吸収性材料からなるチューブの内腔に微細線維化コラーゲン体を有する人工神経管であって、該微細線維化コラーゲン体中の空隙にラミニンが充填されたものである人工神経管。  
5
2. 前記の生体内分解吸収性材料が、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、乳酸と $\epsilon$ -カプロラクトンとの共重合体、ポリジオキサノン、及びグリコール酸とトリメチレンカーボネートとの共重合体の群から選択される材料からなるメッシュ状材料であって、少なくともその外面にゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層を有するものである、請求の範囲第1項記載の人工神経管。  
10
3. 前記のメッシュ状材料が、約5～30 $\mu$ mのメッシュ孔径を有するものである、請求の範囲第2項記載の人工神経管。
4. 前記の生体内分解吸収性材料が、微細線維化コラーゲンからなるものであって、少なくともその外面にコラーゲンからなる被覆層を有するものである、請求の範囲第1項記載の人工神経管。  
15
5. 前記の微細線維化コラーゲン体中に、細胞栄養／成長因子、自己の炎症系細胞又は自己、同種もしくは異種の実形成細胞、の内の少なくとも1つを更に導入してなる請求の範囲第1項乃至第4項のいずれか1に記載の人工神経管。
- 20 6. 人工神経管の製造方法であって、生体内分解吸収性材料からなるチューブを準備し；該チューブの内腔にコラーゲンの塩酸溶液を導入し；凍結し；凍結乾燥して微細線維化コラーゲン体を形成し；該内腔に微細線維化コラーゲン体を有するチューブに熱架橋処理を施し；そして該微細線維化コラーゲン体中にラミニンを導入する；方法。
- 25 7. 前記の生体内分解吸収性材料からなるチューブが、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、乳酸と $\epsilon$ -カプロラクトンとの共重合体、ポリジオキサノン、及びグリコール酸とトリメチレンカーボネートとの共重合体の群から選択される材料からなるメッシュ状材料の少なくともその外面にゼラチン又はコラーゲン溶液をコーティングし；風乾した後、熱架橋処理を施し

て得られたものである請求の範囲第6項記載の方法。

8. 前記の生体内分解吸収性材料からなるチューブが、芯材の表面にコラーゲンの塩酸溶液をコーティングし；凍結し；凍結乾燥して微細線維化コラーゲンからなる層を得；該微細線維化コラーゲンの層を圧縮し；該圧縮した微細線維化コ
- 5 ラーゲンの層の少なくとも外面にゼラチン又はコラーゲン溶液をコーティングし；風乾した後、熱架橋処理を施して得られたものである請求の範囲第6項記載の方法。
9. その中にラミニンを導入された前記の微細線維化コラーゲン体中に、ゼラチン又はコラーゲンに担持させた細胞栄養／成長因子、別途培養した自己の炎症系
- 10 細胞又は自己、同種もしくは異種のエリン形成細胞、の内の少なくとも1種を導入する請求の範囲第7項又は第8項に記載の方法。

1/4

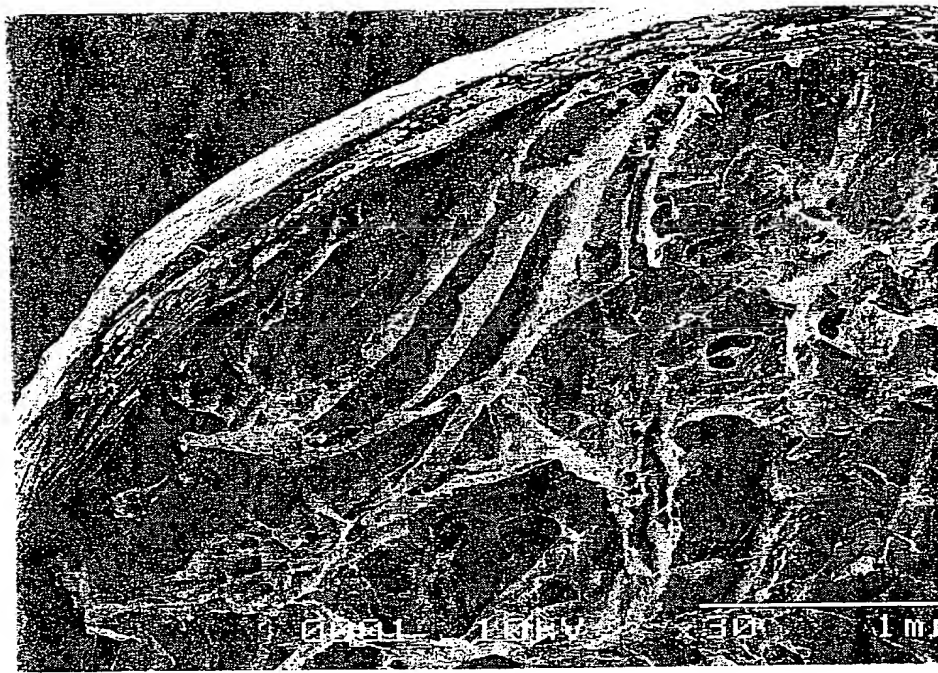
⊗ 1





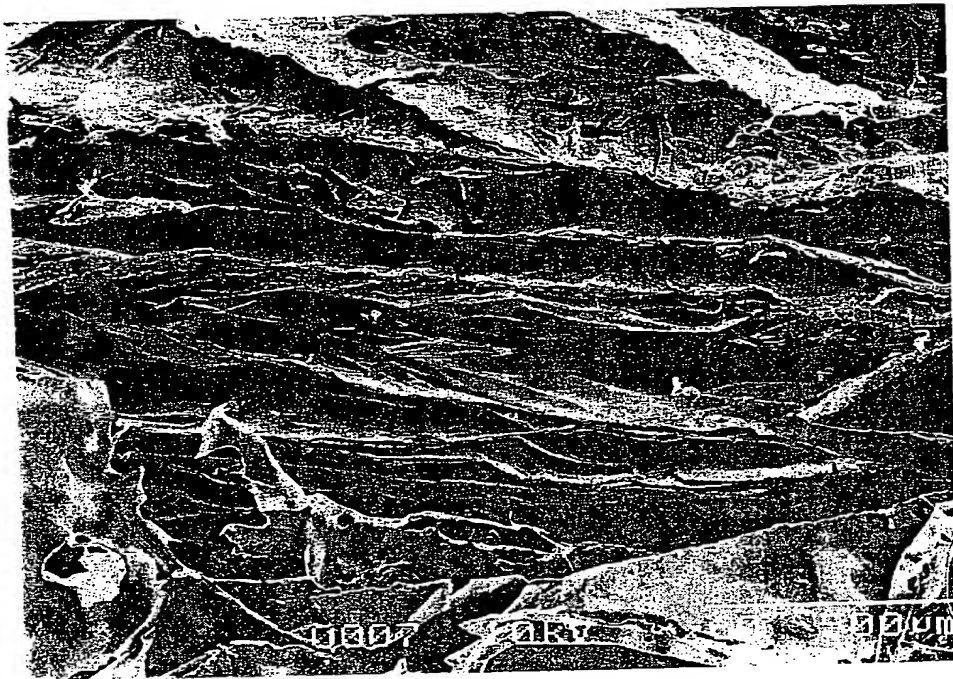
2/4

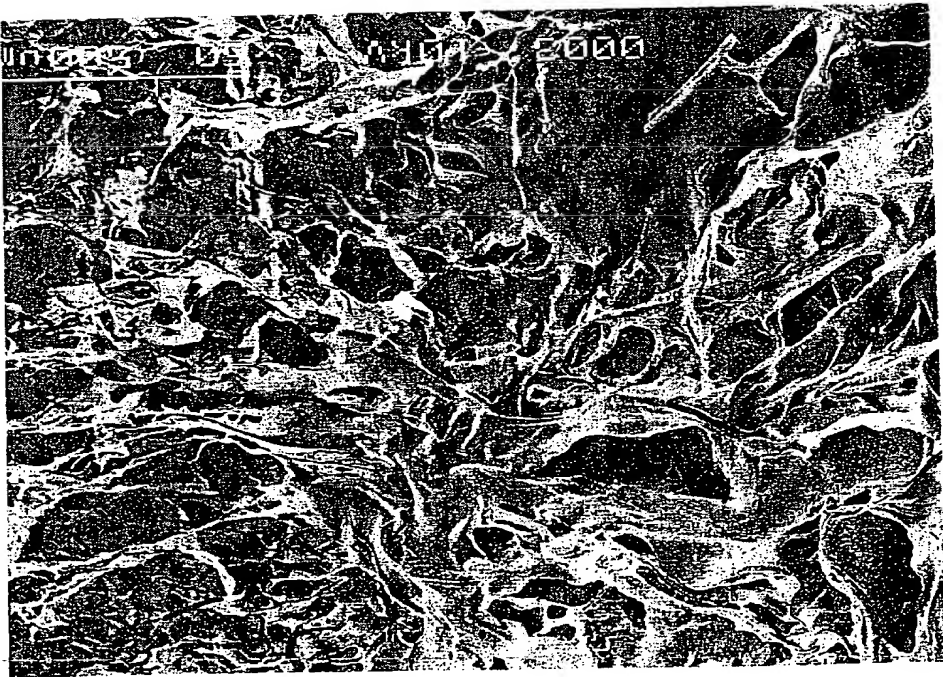
図 2



3/4

図 3





4/4

4/4

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/04380

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int. Cl.<sup>7</sup> A61F2/04, A61L27/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int. Cl.<sup>7</sup> A61F2/04, A61L27/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CA (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO, 8806871, A (ASTRA MEDIC AB), 22 September, 1988 (22.09.88) & EP, 351411, A & JP, 2502432, A	1-9
A	US, 5061281, A (Allied-Signal Inc.), 29 October, 1991 (29.10.91) & EP, 226061, A & JP, 62144663, A	1-9
A	US, 5383925, A (Meadox Medicals, Inc.), 24 January, 1995 (24.01.95), & WO, 9406373, A & JP, 7505327, A	1-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
---	---

Date of the actual completion of the international search  
17 July, 2000 (17.07.00)Date of mailing of the international search report  
25 July, 2000 (25.07.00)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Telephone No.

Facsimile No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl <sup>7</sup> A61F2/04, A61L27/00		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl <sup>7</sup> A61F2/04, A61L27/00		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
CA (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO, 8806871, A (ASTRA MEDIC AB), 22.9月.1988 (22.09.88) & EP, 351411, A & JP, 2502432, A	1-9
A	US, 5061281, A (Allied-Signal Inc.), 29.10月.1991 (29.10.91) & EP, 226061, A & JP, 62144663, A	1-9
A	US, 5383925, A (Meadox Medicals, Inc.), 24.1月.1995 (24.01.95) & WO9406373, A & JP, 7505327, A	1-9
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日	
17.07.00	25.07.00	
国際調査機関の名称及びあて先	特許庁審査官 (権限のある職員)	4P 7433
日本国特許庁 (ISA/JP)	弘 實 謙二	印
郵便番号100-8915	電話番号 03-3581-1101	内線 3492
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**